

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



| | | |
|--|----|--|
| (51) 国際特許分類6 D06M 16/00 | A1 | (11) 国際公開番号 WO98/17854 (43) 国際公開日 1998年4月30日(30.04.98) |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/03795</p> <p>(22) 国際出願日 1997年10月21日(21.10.97)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平8/27777 1996年10月21日(21.10.96) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 花王株式会社(KAO CORPORATION)[JP/JP] 〒103 東京都中央区日本橋茅場町一丁目14番10号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 星野栄一(HOSHINO, Eiichi)[JP/JP] 〒321-34 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社 研究所内 Tochigi, (JP) 和田恭尚(WADA, Yasunao)[JP/JP] 〒640 和歌山県和歌山市湊1334 花王株式会社 研究所内 Wakayama, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 古谷 馨, 外(FURUYA, Kaoru et al.) 〒103 東京都中央区日本橋堀留町1-8-11 日本橋TMビル Tokyo, (JP)</p> | | <p>(81) 指定国 US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |
| <p>(54) Title: METHOD FOR MODIFYING MOISTURE ABSORBING/RELEASING PROPERTIES OF CELLULOSIC FIBERS</p> <p>(54) 発明の名称 セルロース系繊維の吸放湿性能の改質法</p> <p>(57) Abstract A method for modifying cellulosic fibers by improving the moisture absorbing/releasing properties of the fibers without sacrificing the handle inherent therein and without embrittling the same; and cellulosic fibers improved in the moisture absorbing/releasing properties by the above method. The method comprises treating cellulosic fibers with an endo cellulase having a cellulose-bonded water content variation activity value as defined below of at least 105 and an Avicelase activity of at most 10² unit per unit of the CMCase activity. Cellulose-bonded water content variation activity value. This is a relative value of an initial variation in the bonded water content of a cotton powder used as the substrate treated with the cellulase by presuming the bonded water content of a non-cellulase-treated cotton powder to be 100.</p> | | |

(57) 要約

セルロース系繊維本来の風合いを損なわず、かつ繊維を脆化させることなく繊維のもつ吸放湿性能を向上させたセルロース系繊維の改質法、及び該改質法により吸放湿性能が改質されたセルロース系繊維の提供。下記で定義されるセルロース結合水量変動活性値が105以上であり、かつアビセラゼ(Avicelase)活性がCMCase活性1 Unit当たり 10^{-2} Unit以下であるエンド型セルラーゼにより、セルロース系繊維を処理してセルロース系繊維の吸放湿性能を改質する。

<セルロース結合水量変動活性値>

基質としてコットンパウダーを用い、セルラーゼを作用させた時の結合水量の初期変動を、セルラーゼ未処理のコットンパウダーの結合水量を100として相対的に表した値。

・PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

| | | | | | | | |
|----|--------------|----|-----------|----|------------|----|------------|
| AL | アルバニア | FI | フィンランド | LT | リトアニア | SN | セネガル |
| AM | アルメニア | FR | フランス | LU | ルクセンブルグ | SZ | スワジランド |
| AT | オーストリア | GA | ガボン | LV | ラトヴィア | TD | チャード |
| AU | オーストラリア | GB | 英国 | MC | モナコ | TG | トーゴ |
| AZ | アゼルバイジャン | GE | グルジア | MD | モルドヴァ | TJ | タジキスタン |
| BA | ボスニア・ヘルツェゴビナ | GM | ガンビア | MG | マダガスカル | TM | トルクメニスタン |
| BB | バルバドス | GN | ギニア | MK | マケドニア旧ユーゴス | TR | トルコ |
| BE | ベルギー | GW | ギニア・ビサウ | | ラヴィア共和国 | TT | トリニダード・トバゴ |
| BG | ブルガリア | GR | ギリシャ | ML | マリ | UA | ウクライナ |
| BJ | ベナン | GU | グアム | MN | モンゴル | UG | ウガンダ |
| BR | ブラジル | HN | ホンジュラス | MR | モリタニア | US | 米国 |
| BY | ベラルーシ | ID | インドネシア | MW | マラウイ | UZ | ウズベキスタン |
| CA | カナダ | IE | アイルランド | MX | メキシコ | VN | ヴェトナム |
| CF | 中央アフリカ | IL | イスラエル | NE | ニジェール | YU | ユーゴスラヴィア |
| CG | コンゴ共和国 | IS | アイスランド | NL | オランダ | ZW | ジンバブエ |
| CH | スイス | IT | イタリア | NO | ノルウェー | | |
| CI | コートジボアール | JP | 日本 | NZ | ニュージーランド | | |
| CM | カメルーン | KE | ケニア | PL | ポーランド | | |
| CN | 中国 | KG | キルギス | PT | ポルトガル | | |
| CU | キューバ | KR | 韓国 | RO | ルーマニア | | |
| CY | キプロス | KZ | カザフスタン | RU | ロシア | | |
| CZ | チェコ | LC | セント・ルシア | SD | スーダン | | |
| DE | ドイツ | LI | リヒテンシュタイン | SE | スウェーデン | | |
| DK | デンマーク | LK | スリランカ | SG | シンガポール | | |
| EE | エストニア | LR | リベリア | SI | スロヴェニア | | |
| ES | スペイン | LS | レソト | SK | スロヴァキア | | |
| | | | | SL | シエラ・レオネ | | |

明 細 書

セルロース系繊維の吸放湿性能の改質法

発明の背景

発明の分野：

本発明はセルロース系繊維の吸放湿性能の改善法又はこの繊維の改質法に関し、詳しくはセルロース系繊維本来の風合いを損なわず、かつ繊維を脆化させることなく繊維のもつ吸放湿性能を向上させたセルロース系繊維の改質法、及び該改質法により吸放湿性能が改質されたセルロース系繊維に関する。

従来技術：

セルロース系繊維は、その自然な風合いや高い親水性のため古くから親しまれ、化学繊維興隆の昨今においても衣料素材の大部分を占めている。衣料素材あるいはタオル等の家庭用品には吸水性能は勿論のこと、その他に吸放湿性能等様々な機能が要求される。特に吸放湿性能、即ち、吸湿・放湿性能（Hygroscopicity）は衣服内の湿度調節の役割を果たすのみならず、身体の温熱調節においても極めて重要な機能であることが知られている。

セルロース系繊維においては、従来よりカルボキシル基やその他の親水性置換基を導入したり、あるいはセルロース溶解剤やセルラーゼ処理することでセルロース系繊維の親水性をより高くする試みがなされている。しかしながら、置換基を導入することでセルロース系繊維本来の風合いが損

なわれたり、またセルロース溶解剤やセルラーゼ処理によって繊維強度が低下する等の欠点が指摘されていた。例えば「繊維学会誌」48, P487-492 (1992)にはセルロースを特定セルロース溶解剤で処理すると結晶化度が低下して吸水性が向上することが開示されているが、この方法では繊維本来の風合い、強度等が損なわれるという欠点がある。また、JP-B-60-28848にはセルロースを第3級アミン-N-オキサイドに溶解し、延伸の後セルロースを沈殿させて得られるセルロース成型品が開示されているが、この場合もセルロース系繊維を完全に溶解させているので繊維の強度が低下してしまうという欠点がある。一方、公知の如く、単純にセルラーゼを用いて加水分解処理を行えば、セルロース系繊維は細分化・糖化され、脆化を促してしまい、有効な改質は期待できない (Fermentation Technology Today, p.719-725, Society of Fermentation Technology, Osaka(1972)及びBiochem. J., 128, P1183-1192(1972))。

セルラーゼという名称はセルロース及びその誘導体に作用し、これらをグルコース、セロビオース、あるいはセロオリゴ糖に加水分解する酵素の総称として用いられており、その作用機作の多様性から種々の名称がセルラーゼ以外にも用いられているが、セルロース加水分解機構については完全に解明されている訳ではない。セルラーゼはセルロース及びセルロース誘導体に対する作用機作の違いから、セルロース系繊維の吸水性向上等様々なセルロース系繊維の改質の他、汚れの除去、手粗さ軽減、色物衣料の色あせ防止効果等種々の効果がセルラーゼ種を変えることで期待できる。

これまでセルラーゼは一般に大きく2つのグループ、即ちエンド型セルラーゼ (1,4-(1,3;1,4)- β -D-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.4) とエキソ型セルラーゼ (1,4- β -D-glucan cellobiohydrolase, EC 3.2.1.

91) に分類されると考えられてきた (International Union of Biochemistry and Molecular Biology(1992), Enzyme Nomenclature, P347 and 358, Academic Press, New York)。エンド型セルラーゼとは、セルロース鎖をランダムに加水分解し種々のセロオリゴ糖を生成するセルラーゼの総称であり、エキソ型セルラーゼとは、セルロース末端よりセロビオシル単位で加水分解するセルラーゼの総称である。しかし、近年の研究からこうした画一的な考え方ではセルロース加水分解機構を十分説明することができず、同タイプのセルラーゼでも様々な作用機作が認められている。但し、一般にエキソ活性の強いセルラーゼは結晶性セルロースの分解能が強く、木綿単繊維表面にクラックを形成させるなど(J. Biochem., 114, P236-245 (1993))、必然的に木綿繊維を劣化させてしまう恐れが強い。

セルロース系繊維の吸放湿性能はセルロースの非晶領域に大きく影響されると考えられ、よってセルロースの結晶領域に大きな影響を与えず非晶領域のみに効率よく変化を与えることができれば、これらセルロース系繊維を脆化させることなく有効に改質することができるものと考えられる。よってセルロースの非晶領域に効率良くランダム機作で作用するエンド型セルラーゼは、こうした繊維処理用途に適したセルラーゼであると考えられる。エンド型セルラーゼのなかには木綿の非晶領域にランダムに作用することで、加水分解過程の初期に木綿の結合水量を著しく増大させるものが知られている(J. Biochem., 115, P837-842(1994))。また J P - B - 4 - 4 3 1 1 9 には結晶性セルロースに比べて非晶性セルロースに対して高い分解活性を有するセルラーゼ(非破壊性指数 500以上のセルラーゼ)が開示され、このセルラーゼを洗浄剤組成物として用いればセルロース系繊維

維の損傷を殆ど起こさず高い洗浄力を示すことが記載されている。この他、JP-B-3-504080にはセルロース結合ドメインを有し、結晶性セルロースに対する吸着能に優れるセルラーゼが開示され、このセルラーゼは主に木綿含有布の手粗さ軽減に効果があることが記載されている。

しかしながら、これまで見出されたいかなるセルラーゼを用いて一般的な方法でセルロース系繊維を処理しても、吸放湿性能の向上等、セルロースの非晶領域のみを効率良く改質させることは難しく、有効なセルロース系繊維の吸放湿性能の改質法の開発が望まれていた。

発明の開示

本発明者らは対セルロース繊維加水分解系における各種セルラーゼの改質効果を鋭意検討した結果、従来知られていた各種セルラーゼを単独ないし複数セルラーゼの混合系としてセルロース系繊維の処理に用いる場合、エキソ型活性量が大きいとセルロース繊維の劣化を招いてしまうが、ある特定のエンド型セルラーゼを用いて特定条件（ゆるやかな条件）で繊維を処理することで著しくセルロース系繊維の吸放湿性能を向上させることができることを見出した。即ち、セルロース繊維中の結晶領域では強固なセルロース分子間水素結合力が形成されていて水分子とセルロース分子との間に水素結合の形成が起こらないのに対し、非晶領域ではセルロース分子間水素結合力が弱く侵入した水分子の一部は結合水とよばれる束縛水として存在していることが知られている（Textile Res. J. 51, P607-613 (1981)）。従って、セルロース中の結合水量を測定することで非晶領域の量を見積もることができ、更に、セルロースの吸放湿性能に大きく係わる

非晶領域に対するランダム作用性が大きく、同領域のセルロース分子鎖に揺らぎを与え自由度を増大させることができるセルラーゼ程、目的とするセルロース改質効果が大きいことを見出した。即ち該セルラーゼを用いてセルロースを処理することによってセルロース分子鎖の自由度が大きくなるほど、水分子の吸着サイトが多くなり、低蒸気圧環境下から高蒸気圧環境下に移行したときの吸湿量が増大し、同時に高蒸気圧環境下から低蒸気圧環境下に移行した場合においては、吸着していた水分子の脱着量（放湿量）も増大することを見出した。即ち、繊維の重量減量が殆ど起こらない様な加水分解過程の初期段階においてセルロースの結合水量を大きく増加させる性質を有し、かつアビセラーゼ(Avicelase) 活性が非常に小さいエンド型セルラーゼでセルロース系繊維を処理することにより、繊維を劣化させることなく従来にない高い吸放湿性能を付与することができることを見出し、本発明を完成するに至った。

発明の詳細な説明：

本発明は、下記で定義されるセルロース結合水量変動活性値が105以上であり、かつAvicelase活性がCMCase活性1 Unit当たり 10^{-2} Unit以下であるエンド型セルラーゼにより、セルロース系繊維を処理することを特徴とするセルロース系繊維の吸放湿性能の改善法又はその繊維の改質法、及び該改質法により吸放湿性能が改質されたセルロース系繊維を提供するものである。

<セルロース結合水量変動活性値>

基質としてコットンパウダーを用い、セルラーゼを作用させた時の結合水量の初期変動を、セルラーゼ未処理のコットンパウダーの結合水量を100として相対的に表した値。

ここで、吸放湿性能とは吸湿・放湿性能 (Hygroscopicity) のことである。

また、本発明において「セルロース系繊維」とは、パルプ、コットン、麻、レーヨン、あるいはそれらと他の非セルロース系繊維との混紡繊維等を意味する。

本発明は、換言すれば、定義したセルラーゼでセルロース繊維を処理することにより吸放湿性能 (Hygroscopicity) を改善したセルロース繊維の製造方法である。

以下、本発明の実施の形態を詳細に説明する。

本発明に用いられるセルラーゼは、可能な限り精製されたものが好ましく、即ちセルラーゼ中の上記の如く規定したエンド型セルラーゼの含有量はできるだけ高い方がよい。但し、本発明に用いられるセルラーゼは単独で高いセルロース結合水量変動活性値を有するものを用いることが好ましいが、単独のセルラーゼに限らず複数のセルラーゼの混合系であってもセルロース結合水量変動活性値が105 以上であることが大きなセルロース系繊維改質効果を発揮する上で重要であり、単独のセルラーゼであることに限定されない。また、セルロース結合水量変動活性値は更には 110以上であることが望ましい。

尚、セルロース結合水量変動活性値は、上記で定義した値であるが、具体的には以下の様にして求める。

・セルロース結合水量変動活性値の測定方法

① コットンのセルラーゼ処理

終濃度 2.0% (w/v) のコットンパウダー (J. Biochem., 114, P230-235 (1993) 記載のもの) を懸濁させた50mM緩衝液 (酸性域 (pH 5.0 以下)

の場合は酢酸ナトリウム緩衝液、中性域(pH 5.0 ~ 8.0)の場合はリン酸緩衝液、弱アルカリ域(pH 8.0 以上)の場合はグリシン緩衝液) 中に、終濃度50 CMCase-Unit/ml となる様にセルラーゼを加え、30℃、100rpm で1 ~ 3 時間反応させた(セルラーゼ未処理コットンパウダーとしては、緩衝液のみで30℃、100rpmで3 時間処理したコットンを用いた)。反応終了後、反応残渣をガラスフィルターで濾別し、蒸留水→エタノール→アセトンの順に洗浄した。

② 示差走査熱量計(DSC)による結合水量の測定

既法(J. Biochem., 115, P837-842(1994))を参考に以下の方法でコットン中の結合水量をDSCにより測定した。

即ち、上記①で得られたセルラーゼ処理又は未処理コットンパウダーを約1週間減圧下におき絶乾状態とした。DSC用密封セル(Ag 70 μ l ; セイコー電子)に上記コットンパウダーとコットンパウダーに対し20~160 % (w/w) の超純水を加えて完全密封した後、高温(50℃)及び低温(凍結)環境下に数回さらすことで、コットンサンプル中に超純水を均一に浸透させた。この様に水分率を逐次変えた試料セルを一つのコットンサンプルにつき最低4点用意した。水の相転移を測定するための熱分析装置としてDSC(SSC-5200H ; セイコー電子)を用い、試料セルを30℃から-50℃まで8℃/分の速度で冷却することで、-14℃前後に生じる自由水の凍結に伴う発熱ピークを測定した。各コットンサンプルの結合水量は、水分率を逐次変えたコットンサンプルのDSC曲線から自由水の凍結時の発熱量(J/g-コットン)を求め、Y軸に発熱量、X軸に水分率をプロットした時のX線切片から求め、各コットンサンプルの絶乾重量に対する重量%で表した。

③ セルロース結合水量変動活性値の算出

セルラーゼ未処理のコットンサンプルの結合水量 (%) を 100として、セルラーゼを作用させたコットンサンプルの結合水量の相対値を算出し、セルロース結合水量変動活性値とした。尚、各酵素のコットン結合水量変動活性値は、1～3時間セルラーゼを作用させたコットンサンプルのうち、最も結合水量が増加した時点での値を用いた。

ここで、結合水量の変動を測定する方法は "E. Hoshino et al., J. Biochem. 115, P837-842 (1994)" に記載されている方法である。

また、本発明で用いられるエンド型セルラーゼは、Avicelase活性がCMCase活性 1 Unit当たり 10^{-2} Unit以下であることが必要である。

Avicelase活性がCMCase活性 1 Unit当たり 10^{-2} Unitを超えると本発明の効果を得ることができない。なお、セルラーゼのCMCase活性及びAvicelase活性は以下の如く測定した。

・CMCase活性の測定法

反応液中でのカルボキシメチルセルロース (CMC, 平均分子量55,000、重合度 250、置換度0.65～0.75; 日本製紙 (株) 製) の終濃度が 1 % (w/v) となる様な基質溶液 0.9ml (酸性域 (pH 5.0以下) の場合は終濃度 50mMの酢酸ナトリウム緩衝液、中性域 (pH 5.0～8.0) の場合は終濃度50mMのリン酸緩衝液、弱アルカリ域 (pH 8.0以上) の場合は終濃度100mM のグリシン緩衝液) に、適当濃度の酵素溶液 0.1mlを加えて40℃で20分間反応させた。反応後 1 mlのDNS発色液 (NaOH 1.6% (w/v)、3,5-ジニトロサリチル酸0.5% (w/v)、酒石酸カリウムナトリウム30% (w/v))を加えて5分間煮沸し発色させた。発色後直ちに氷冷し (15分程度)、4 mlのイオン交換水を加えてよく混合した後、535 nmでの吸光度を測定した。生成した還

元糖量を同時に作成したグルコース検量線から算出し、酵素活性値を求めた。尚、酵素活性は1分間に1mgのグルコース等量の還元糖を生成する酵素量を100 Unitと定義した。

・Avicelase活性の測定法

反応系でのアビセル(Avicel, Art. 2331 ; E. Merck社製)の終濃度が1%(w/v)となる様な基質溶液3ml(酸性域(pH 5.0以下)の場合は終濃度50mMの酢酸ナトリウム緩衝液、中性域(pH 5.0~8.0)の場合は終濃度50mMのリン酸緩衝液、弱アルカリ域(pH 8.0以上)の場合は終濃度100mMのグリシン緩衝液)に、適当濃度の酵素溶液1mlを加えて40℃、1時間、100rpmにて反応させた。反応後、反応液を5分間煮沸し、遠心分離(3,000rpm、10分)によってアビセル残渣を沈殿させた。上澄液2mlを分取し、1mlのPHBAH発色液(4-ヒドロキシ安息香酸ヒドラジド 1.5%(w/v)、NaOH 2.0%(w/v))を加えて10分間煮沸して発色させた。発色後、直ちに氷冷し(15分程度)、4mlのイオン交換水を加えてよく混合した後、410 nmでの吸光度を測定した。生成した還元糖量を同時に作成したグルコース検量線から算出し、酵素活性値を求めた。尚、酵素活性は1分間に1mgのグルコース等量の還元糖を生成する酵素量を100 Unitと定義した。

本発明に用いられるセルラーゼとしては、動植物、細菌、菌類に広く分布しているものが使用でき、特にエンド型セルラーゼ成分の含量の高いそれらの精製分画物を用いることが望ましい。

本発明に用いられるセルラーゼの起源としては以下に示すものが例示されるが、本発明のセルラーゼ成分はセルロース結合水量変動活性値が105以上で、かつAvicelase活性がCMCase活性1Unit当たり 10^{-2} Unit以下であることのみが必須であり、何ら起源を限定するものではない。

[1] 細菌に起源するものとして

(1) Bacillus属(2) Cellvibrio属

例えば、Cellvibrio fulvus, Cellvibrio gilvus, Cellvibrio vulgaris

(3) Cellulomonas属

例えば、Cellulomonas flavigena, Cellulomonas uda

(4) Pseudomonas属

例えば、Pseudomonas fluorescens

(5) Sporocytophaga属

例えば、Sporocytophaga myxococcoides

(6) Acetivibrio属

例えば、Acetivibrio celluolyticus

(7) Clostridium属

例えば、Clostridium acetobutylium, Clostridium stercorarium,
Clostridium thermocellulaseum, Clostridium thermocellum,
Clostridium lochheadii, Clostridium longisporum

(8) Coprococcus属(9) Bacterioides属

例えば、Bacterioides succinogenes

(10) Butyrivibrio属

例えば、Butyrivibrio fibrisolvens

(11) Treponema属

例えば、Treponema bryantii

(12) Ruminococcus属

例えば、Ruminococcus albus, Ruminococcus flavefaciens

(13) Streptomyces属

例えば、Streptomyces flavogriseus

(14) Thermoactinomyces属(15) Thermonospola属

例えば、Thermonospola curvata, Thermonospola fusca

[2] 菌類に起源するものとして

(1) Chaetomium属

例えば、Chaetomium cellulolyticum, Chaetomium thermophile
Chaetomium globosum

(2) Humicola属

例えば、Humicola insolens, Humicola grisea var. thermoidea

(3) Myceliophthola属

例えば、Myceliophthola cellulophilum, Myceliophthola
thermophile

(4) Sporotrichum属

例えば、Sporotrichum pruinatum, Sporotrichum pulverulentum,
Sporotrichum thermophile, Sporotrichum dimorphosporum

(5) Talaromyces属

例えば、Talaromyces emersonii

(6) Thermoascus属

例えば、Thermoascus aurantiacus

(7) Thielavia属

例えば、Thielavia terrestris

(8) Acremonium属

(9) Agaricus属

例えば、Agaricus bisporus

(10) Alternaria属

例えば、Alternaria alternata

(11) Aspergillus属

例えば、Aspergillus aculeatus, Aspergillus flavus,
Aspergillus foetidus, Aspergillus fumigatus,
Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Aspergillus
saitoi, Aspergillus sojae, Aspergillus terreus,
Aspergillus wentii

(12) Botryodiplodia属

例えば、Botryodiplodia theobromae

(13) Fusarium属

例えば、Fusarium avenaceum, Fusarium lini, Fusarium moniliforme,
Fusarium solani, Fusarium oxysporum, Fusarium
bulbigenum, Fusarium equiseti, Fusarium lateritium

(14) Irpeex属

例えば、Irpeex lacteus

(15) Myrothecium属

例えば、Myrothecium verrucaria

(16) Neurospora属

例えば、Neurospora crassa

(17) Penicillium属

例えば、Penicillium funiculosum, Penicillium iriensis,
Penicillium notatum, Penicillium putpurogenum,
Penicillium variable, Penicillium verruculosum

(18) Pestalotiopsis属

例えば、Pestalotiopsis westerdijkii, Pestalotiopsis versicolor

(19) Pleurotus属

例えば、Pleurotus sojor-caju

(20) Polyporus属

例えば、Polyporus shweinitzii, Polyporus versicolor,
Polyporus tulipiferae

(21) Poria属

例えば、Poria placenta

(22) Pycnoporus属

例えば、Pycnoporus cinnabarinus

(23) Pyricularia属

例えば、Pyricularia oryzae

(24) Rhizopus属

例えば、Rhizopus javanicus

(25) Schizophyllum属

例えば、Schizophyllum commune

(26) Sclerotium属

例えば、Sclerotium rolfsii

(27) Scytalidium属

例えば、Scytalidium lignicola

(28) Termitomyces属

例えば、Termitomyces clypeatus

(29) Thielavia属

例えば、Thielavia terrestris

(30) Trametes属

例えば、Trametes sanguinea

(31) Trichoderma属

例えば、Trichoderma koningii, Trichoderma longibrachiatum,
Trichoderma reesei, Trichoderma viride

[3] 前記セルロース結合水量変動活性値を有するエンド型セルラーゼ成分をコードするDNA配列を組み込まれた組換え体DNAベクターで形質転換された宿主細胞を、該エンド型セルラーゼ成分が発現する条件下、培地中で培養し、次いで培地よりエンド型セルラーゼ成分を回収することによって生産可能であるセルラーゼ等。

本発明に用いられる上記特定のエンド型セルラーゼとしては、具体的には、例えばStreptomyces sp. KSM-26 株（住所：日本国〒305茨城県つくば市東1-1-3、通産省工業技術院生命工学工業技術研究所、受託番号 FERM P-13548）、Bacillus sp. KSM-366株（工業技術院生命工学工業技術研究所、菌受託番号 FERM P-14772）、Bacillus sp. UC-4 株（工業技術院生命工学工業技術研究所、菌受託番号 FERM P-14451）、Bacillus sp. UC-43株（工業技術院生命工学工業技術研究所、菌受託番号 FERM P-14452）、Irpex lacteus (J. Biochem., 87, P1625-1634(1980)記載) 等の生産する酵素系から分離、精製することによって入手可能である。

本発明において、上記のような特定のエンド型セルラーゼを用いてセルロース系繊維を処理する方法としては、特に限定されないが、エンド型セルラーゼが、CMCase活性として0.01~10,000Unit/リットル、好ましくは0.1~1,000 Unit/リットル、更に好ましくは1~500 Unit/リットル、セルロース系繊維が0.001~80重量%となる割合で調製した水溶液でセルロース系繊維を処理することが望ましい。また、本発明に用いられるエンド型セルラーゼのセルロース結合水量変動活性値は105以上、更には110以上であることが好ましい。

本発明の改質法は、通常の衣料、下着類の素材としては勿論、タオルやスポーツ用衣料、清掃用シート、除湿用シート等、高吸放湿性の要求されるあらゆる用途に用いられるセルロース系繊維の吸放湿性能の改質に利用できる。また、セルロース系繊維及びその構造体の形態も限定されず、単繊維、糸、織布、編布、紙、不織布、スポンジ、その他の可撓性基体等、あらゆる繊維製品に対しても本発明の改質法は適用できる。

本発明によれば、セルロース系繊維本来の風合いを損なわず、且つ繊維を脆化させることなく吸放湿性を向上させることができる。しかも本発明の方法はセルロース系繊維の種類を問わず、木綿、麻等の天然繊維に限られず、レーヨン、テンセル等の再生セルロースや半再生セルロース、又はそれらの混紡品であってもその改質効果が得られる。

実施例

以下、実施例にて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

尚、実施例及び比較例においては以下の酵素を使用した。

- ① Streptomyces sp. KSM-26 株（工業技術院生命工学工業技術研究所（住所：日本国〒305茨城県つくば市東1-1-3））、受託番号 FERM P-13548)を、ニュートリエント・ブロスの基本培地として総計72時間培養した後、菌体を遠心分離して得られた培養液を硫酸分画（30～80% (w/v) 飽和分画）し、生成する固型分を凍結乾燥して酵素粉末を得た。本酵素を以後セルラーゼC-1 と略記する。
- ② Bacillus sp. UC-4 株（工業技術院生命工学工業技術研究所、受託番号 FERM P-14451)を、ニュートリエント・ブロスの基本培地として総計72時間培養した後、菌体を遠心分離して得られた培養液を硫酸分画（30～80% (w/v) 飽和分画）し、生成する固型分を凍結乾燥して酵素粉末を得た。本酵素を以後セルラーゼC-2 と略記する。
- ③ Bacillus sp. UC-43株（工業技術院生命工学工業技術研究所、受託番号 FERM P-14452)を、ニュートリエント・ブロスの基本培地として総計72時間培養した後、菌体を遠心分離して得られた培養液を硫酸分画（30～80% (w/v) 飽和分画）し、生成する固型分を凍結乾燥して酵素粉末を得た。本酵素を以後セルラーゼC-3 と略記する。
- ④ Bacillus sp. KSM-366株（工業技術院生命工学工業技術研究所、受託番号 FERM P-14772)を、ニュートリエント・ブロスの基本培地として総計72時間培養した後、菌体を遠心分離して得られた培養液を硫酸分画（30～80% (w/v) 飽和分画）し、生成する固型分を凍結乾燥して酵素粉末を得た。本酵素を以後セルラーゼC-4 と略記する。
- ⑤ Irpex lacteusの生産するエンド型セルラーゼEn-1（J. Biochem., 87, P1625-1634(1980) に記載の方法で得た精製品）

- ⑥ J P - B - 4 - 4 3 1 1 9 および "Agric. Biol. Chem., 53, P1275-1281 (1989)" に記載されている Bacillus sp. KSM-635 株の生産するセルラーゼ K
- ⑦ Irpe lacteus の生産するエキソ型セルラーゼ Ex-1 (J. Biochem., 84, P1217-1226 (1978) に記載の方法で得た精製品)
- ⑧ 市販セルラーゼであるセルザイム (ノボノルディスク社製 (Novo Nordisk))

表 1 にこれら使用セルラーゼの諸性質を示す。

表 1

| | セルラーゼ | セルロース 結合水量変 動活性値 | 至適 p H | 至適温度 (℃) | Avicelase 活性*1 (10 ⁻² Unit /CMCase・Unit) |
|------------------|-----------|------------------------|-----------|-------------|---|
| 本 発 明 品 | セルラーゼ C-1 | 122 | 7.0 | 55 | 0.14 |
| | セルラーゼ C-2 | 113 | 6.0 | 50 | 0.08 |
| | セルラーゼ C-3 | 110 | 6.0 | 45~50 | 0.15 |
| | セルラーゼ C-4 | 111 | 6.2 | 40 | 0.19 |
| | En-1 | 119 | 4.0 | 50 | 0.13 |
| 比 較 品 | セルラーゼ K | 102 | 9.5 | 40 | 0.03 |
| | Ex-1 | 99 | 5.0 | 50 | 14.28 |
| | セルザイム | 105 | 6.0 | 60 | 4.26 |

注)

*1: 各セルラーゼの CMCase 活性 1 Unit 当たりに含まれる Avicelase 活性

実施例 1 ～ 1 5 及び比較例 1 ～ 1 2

セルロース系繊維構造体として、下記の 3 種類を用意し、油剤等の処理剤を除去するため、予め十分前処理し精練したものを用いた。

- ① コットン平織り布（20番手金巾；洗濯科学協会から入手した平織り布、坪量 142.9g/m^2 、密度 0.32g/cm^3 ）
- ② コットンタオル（市販品、坪量 250g/m^2 ）
- ③ レーヨン平織り布（坪量 130g/m^2 、密度 0.25g/cm^3 ）

酵素反応液を終濃度として、各セルラーゼ； $10\sim 100\text{ CMCase Unit/ml}$ - 緩衝液、各セルロース系繊維構造体； 2.5% (w/v) となる様調製し、脱気操作によりセルロース系繊維構造体に酵素液をよく浸透させた後、 40°C にて30分間～2日間浸透・浸漬した。その後、十分に水洗し、風乾後、 30°C 、 55% 相対湿度 (RH) の環境下に24時間放置した。同環境下で重量を測定した後、素早く 30°C 、 85% RHの環境下に移動し、5分後の重量増加量を測定し、各セルロース系構造体の単位面積当たりの吸湿速度 ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{min}$) を算出した。

尚、吸湿速度は、上記反応条件のうち、最も大きく向上した値を実施例及び比較例の結果として示した。

また、上記の酵素処理後の各セルロース系繊維の脆化程度を、吸湿速度が最も向上した時点において、酵素反応液中に遊離してくる生成還元糖量及びセルロース系繊維の重量減少率の測定、及び引張強度、風合いの変化を下記方法で測定することで評価した。

① 生成還元糖量の測定

酵素処理後の反応上澄液を遠心分離後、 1.0ml を還元糖の測定に供した。還元糖の測定は定法である 3,5-ジニトロサリチル酸法 (DNS

法)に従った。

② 重量減少率の測定

酵素処理後の各セルロース系繊維構造体を十分に水洗し、風乾後、25℃、65%RHの環境下に72時間放置した後、重量を測定し、以下の式から重量減少率を算出した。

$$\text{重量減少率(\%)} = \frac{\text{酵素処理前の布重量} - \text{酵素処理後の布重量}}{\text{酵素処理前の布重量}} \times 100$$

③ 引張強度の測定

酵素処理後の各セルロース系繊維構造体を十分に水洗し、風乾後、25℃、65%RHの環境下に72時間放置した後、引張強度試験に供した。引張強度試験法は、JIS L-1096A法（ラベルドストリップ法）に準じた。具体的には上記方法で処理した各試料から試験片の幅が2.5cmになる様切り出し、織物引張試験機にて荷重し、切断時の強さ(kgf)を測定した。結果は縦方向及び横方向それぞれ3回の平均値で示した。

④ 風合い比較

酵素処理後の各セルロース系繊維構造体を室内で風乾後、25℃、65%RHの環境下に72時間放置した。その後、セルラーゼ未処理繊維構造体を対照にして一対比較を行い、下記評価基準により評価した。

- + 2 対照より風合いが良い
- + 1 対照よりやや風合いが良い
- 0 対照と同じ

－ 1 対照よりやや風合いが悪い

－ 2 対照より風合いが悪い

表 2 ～ 4 に各セルラーゼ処理による各セルロース系繊維構造体の吸湿速度及び各物性変化の測定結果を示す。

表 2 ～ 4 の結果から、本発明の改質方法が、比較の改質方法に比べて繊維を脆化することなく、高い吸湿性能を付与する上で極めて有効であることがわかる。

表 2

| | セルロース系繊維 構造体 | セララーゼ | 吸湿速度 (g/m ² ・min) | 生成還元糖量 (mg/ml-反応液) | 重量 減少率 (%) | 引張強度 (kgf) | | 風合い |
|-------------|-----------------|-----------|---------------------------------|-----------------------|------------------|------------|------|------|
| | | | | | | 縦方向 | 横方向 | |
| 実 施 例 | コットン平織り布 | セララーゼ C-1 | 0.64 | 0.012 | 0 | 25.0 | 28.6 | 0 |
| | | セララーゼ C-2 | 0.59 | 0.010 | 0 | 25.1 | 28.4 | 0 |
| | | セララーゼ C-3 | 0.60 | 0.015 | 0 | 25.0 | 28.5 | 0 |
| | | セララーゼ C-4 | 0.61 | 0.014 | 0 | 25.2 | 28.1 | 0 |
| | | En-1 | 0.54 | 0.008 | 0.15 | 24.9 | 28.0 | 0 |
| 比 較 例 | | セララーゼ K | 0.40 | 0.006 | 0 | 25.1 | 28.6 | 0 |
| | | Ex-1 | 0.41 | 4.276 | 17.3 | 21.6 | 24.9 | -1 |
| | | セルザイム | 0.42 | 3.551 | 10.7 | 22.3 | 25.0 | -2 |
| | | 未処理 | 0.39 | 0 | 0 | 25.1 | 28.5 | (基準) |

表 3

| | セルロース系繊維 構造体 | セルラーゼ | 吸湿速度 (g/m ² ・min) | 生成還元糖量 (mg/ml-反応液) | 重量 減少率 (%) | 引張強度 (kgf) | | 風合い |
|-------------|-----------------|-----------|---------------------------------|-----------------------|------------------|------------|------|------|
| | | | | | | 縦方向 | 横方向 | |
| 実 施 例 | コットンタオル | セルラーゼ C-1 | 1.00 | 0.021 | 0 | 20.3 | 22.5 | 0 |
| | | セルラーゼ C-2 | 0.93 | 0.016 | 0 | 20.3 | 22.5 | 0 |
| | | セルラーゼ C-3 | 0.95 | 0.025 | 0 | 20.2 | 22.5 | 0 |
| | | セルラーゼ C-4 | 0.97 | 0.024 | 0 | 20.1 | 21.9 | 0 |
| | | En-1 | 0.84 | 0.013 | 0.08 | 20.0 | 21.7 | 0 |
| 比 較 例 | | セルラーゼ K | 0.63 | 0.010 | 0 | 20.4 | 22.5 | 0 |
| | | Ex-1 | 0.62 | 7.480 | 20.2 | 18.5 | 19.9 | - 2 |
| | | セルザイム | 0.65 | 6.198 | 13.9 | 18.7 | 20.2 | - 2 |
| | | 未処理 | 0.61 | 0 | 0 | 20.3 | 22.5 | (基準) |

表 4

| | セルロース系繊維 構造体 | セルラーゼ | 吸湿速度 (g/m ² ・min) | 生成還元糖量 (mg/ml-反応液) | 重量 減少率 (%) | 引張強度 (kgf) | | 風合い |
|-------------|-----------------|-----------|---------------------------------|-----------------------|------------------|------------|------|------|
| | | | | | | 縦方向 | 横方向 | |
| 実 施 例 | レーヨン平織り布 | セルラーゼ C-1 | 1.11 | 0.009 | 0 | 20.5 | 15.7 | 0 |
| | | セルラーゼ C-2 | 1.00 | 0.008 | 0 | 20.1 | 15.7 | 0 |
| | | セルラーゼ C-3 | 1.03 | 0.011 | 0 | 20.4 | 15.5 | 0 |
| | | セルラーゼ C-4 | 1.04 | 0.011 | 0 | 20.3 | 15.6 | 0 |
| | | En-1 | 0.92 | 0.006 | 0 | 20.0 | 15.4 | 0 |
| 比 較 例 | | セルラーゼ K | 0.82 | 0.004 | 0 | 20.3 | 15.8 | 0 |
| | | Ex-1 | 0.81 | 3.401 | 9.8 | 17.9 | 14.1 | -1 |
| | | セルザイム | 0.84 | 2.822 | 7.7 | 18.0 | 14.0 | -1 |
| | | 未処理 | 0.80 | 0 | 0 | 20.3 | 15.7 | (基準) |

請 求 の 範 囲

1. 下記で定義されるセルロース結合水量変動活性値が 105以上であり、かつAvicelase活性がCMCase活性 1 Unit当たり 10^{-2} Unit以下であるエンド型セルラーゼにより、セルロース系繊維を処理するセルロース系繊維の吸放湿性能の改質方法。

<セルロース結合水量変動活性値>

基質としてコットンパウダーを用い、セルラーゼを作用させた時の結合水量の初期変動を、セルラーゼ未処理のコットンパウダーの結合水量を100として相対的に表した値。

2. エンド型セルラーゼが、CMCase活性として0.01~10,000Unit/リットル、セルロース系繊維が0.001~80重量%となる割合で調製した水溶液でセルロース系繊維を処理する請求項1に記載した方法。

3. エンド型セルラーゼが細菌又は菌類により生産されるものである請求項1に記載した方法。

4. 請求項1に記載した方法により吸放湿性能が改質されたセルロース系繊維。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/03795

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ D06M16/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ D06M16/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | | | |
|---------------------------|-------------|----------------------------|-------------|
| Jitsuyo Shinan Koho | 1926 - 1997 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994 - 1997 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971 - 1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996 - 1997 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y | JP, 54-5237, B (Yakuruto Seikagaku K.K.), March 14, 1979 (14. 03. 79) (Family: none) | 1 - 4 |
| Y | WO, 94/19527, A1 (Meiji Seika Kaisha, Ltd.), September 1, 1994 (01. 09. 94) & EP, 636740, A1 | 1 - 4 |
| A | WO, 91/17243, A1 (Novo Nordisk A/S), November 14, 1991 (14. 11. 91) & DK, 115990, A0 & DK, 73691, A0 & AU, 7887491, A1 & EP, 531372, B1 & AT, 118545, E & DE, 69197455, C0 & ES, 2068586, T3 | 1 - 4 |
| A | WO, 94/12578, A1 (Novo Nordisk A/S), June 9, 1994 (09. 06. 94) (Family: none) | 1 - 4 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
January 13, 1998 (13. 01. 98)

Date of mailing of the international search report
January 27, 1998 (27. 01. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 97/03795

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ D 0 6 M 1 6 / 0 0

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ D 0 6 M 1 6 / 0 0

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報 | 1926-1997年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-1996年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-1997年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-1997年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| Y | J P, 54-5237, B (ヤクルト生化学株式会社), 14. 3月. 1979 (14. 03. 79) (ファミリーなし) | 1-4 |
| Y | WO, 94/19527, A1 (明治製菓株式会社), 01. 9月. 1994 (01. 09. 94) & EP, 636740, A1 | 1-4 |
| A | WO, 91/17243, A1 (ノボ ノルディスク アクティーゼルスカブ), 14. 11月. 1991 (14. 11. 91) & DK, 115990, A0 & DK, 73691, A0 & AU, 7887491, A1 & EP, 531372, B1 & AT, 118545, E & DE, 69197455, C0 & ES, 2068586, T3 | 1-4 |
| A | WO, 94/12578, A1 (ノボ ノルディスク アクティーゼルスカブ), 09. 6月. 1994 (09. 06. 94) (ファミリーなし) | 1-4 |

☐ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

13. 01. 98

国際調査報告の発送日

27.01.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

松 縄 正 登

印

3 B

7 6 3 3

電話番号 03-3581-1101 内線 3319